

# Bioprozesstechnik

Horst Chmiel (Hrsg.)

# Bioprozesstechnik

3., neu bearbeitete Auflage

## **Herausgeber**

Prof. Dr.-Ing. habil. Horst Chmiel  
Haslangstraße 28  
80689 München  
E-Mail: auditaUB@aol.com

## **Wichtiger Hinweis für den Benutzer**

Der Verlag, der Herausgeber und die Autoren haben alle Sorgfalt walten lassen, um vollständige und akkurate Informationen in diesem Buch zu publizieren. Der Verlag übernimmt weder Garantie noch die juristische Verantwortung oder irgendeine Haftung für die Nutzung dieser Informationen, für deren Wirtschaftlichkeit oder fehlerfreie Funktion für einen bestimmten Zweck. Der Verlag übernimmt keine Gewähr dafür, dass die beschriebenen Verfahren, Programme usw. frei von Schutzrechten Dritter sind. Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Buch berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften. Der Verlag hat sich bemüht, sämtliche Rechteinhaber von Abbildungen zu ermitteln. Sollte dem Verlag gegenüber dennoch der Nachweis der Rechtsinhaberschaft geführt werden, wird das branchenübliche Honorar gezahlt.

## **Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek**

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Springer ist ein Unternehmen von Springer Science+Business Media  
[springer.de](http://springer.de)

3. Auflage 2011

© Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg 2011  
Spektrum Akademischer Verlag ist ein Imprint von Springer

11 12 13 14 15            5 4 3 2 1

Das Werk einschließlich aller seiner Teile ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung außerhalb der engen Grenzen des Urheberrechtsgesetzes ist ohne Zustimmung des Verlages unzulässig und strafbar. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.

Planung und Lektorat: Dr. Ulrich G. Moltmann, Sabine Bartels

Redaktion: Annette Heß

Umschlaggestaltung: SpieszDesign, Neu-Ulm

Titelfotografie: © iStockphoto/seraficus

Satz: TypoStudio Tobias Schaedla, Heidelberg

ISBN 978-3-8274-2476-1

# Vorwort zur 3. Auflage „Bioprozesstechnik“

Die sog. „Weiße Biotechnologie“ (biotechnologische Massenproduktion von Bulk- und Feinchemikalien, Lebensmitteln, Biotreibstoffen) hat mittlerweile in der Industrie in zahlreichen Prozessen Anwendung gefunden. Für 2012 wird weltweit ein Umsatz von 90 Milliarden € vorhergesagt. Aber auch die „Rote Biotechnologie“ (Produktion komplexer Wirkstoffe mittels tierischer Zellkulturen) erlangt mit 45 Milliarden € für die Pharmaindustrie eine enorme wirtschaftliche Bedeutung offensichtlich als Folge erster auslaufender Patente. Selbst die moderne biologische Abwasserreinigung („Graue Biotechnologie“) verbucht große Erfolge.

In der überarbeiteten und aktualisierten **3. Auflage** wird allen drei genannten Gebieten entsprechend Raum gegeben. Außerdem konnten Autoren für neue Kapitel gewonnen werden. Zusätzlich haben Wissenschaftler aus Hochschule und Industrie Kurzbeiträge als Unterkapitel geliefert, die die Aktualität des Buches erhöhen.

Das Werk beginnt mit einer Einführung in die Zellbiologie und Biochemie. Es folgen Beiträge zur Kinetik von Enzymen und Mikroorganismen. Kapitel 5 beschäftigt sich ausführlich mit der Rheologie von Biosuspensionen (Scher- und Dehnviskosität, Viskoelastizität). Den Einfluss dieser Fließeigenschaften auf Transportvorgänge (Impuls-, Wärme- und Stoffaustausch) im Bioreaktor behandelt Kapitel 6. Dieses beginnt wegen der besonderen Bedeutung für die Maßstabsübertragung mit einer Einführung in dimensionslose Kennzahlen. Mit diesem Rüstzeug folgen in Kapitel 7 Betrachtungen zu Bioreaktoren i. A. und den Besonderheiten für spezifische Applikationen (z.B. Membran-, Photo-, Gewebe- und Einmalbioreaktoren). Dem Wunsch zahlreicher Leser, das Teilkapitel 7.4 „Parallelbetrieb von Bioreaktoren“ zu vertiefen, wurde dabei Rechnung getragen. Die Bedeutung der Sterilisation für die

Bioproduktion wird häufig unterschätzt (Kap. 8 „Sterilisation und Sterildesign“). Das komplexe Mehrphasensystem in einem Bioprozess stellt höchste Anforderungen an die Mess- und Regeltechnik (Kap. 9 „Bioprozessanalytik und -steuerung“). Mehr als die Hälfte der Kosten eines Bioproduktes entfallen auf die Aufarbeitung. Den Einzelschritten Zellernte, Zellaufschluss, Produktisolierung und Produktreinigung werden in Kap. 10 deshalb besondere Beachtung geschenkt. Das Kapitel 11 „Kultivierung von Säugertierzellen“ wurde wegen der eingangs erwähnten gestiegenen wirtschaftlichen Bedeutung wesentlich erweitert. Enzymatische Prozesse haben einige verfahrenstechnische Besonderheiten (Kap. 12 „Enzymatische Prozesse“).

Der Übergang von der „Grauen“ zur „Weißen Biotechnologie“ ist fließend; das demonstriert das in der 3. Auflage wieder aufgenommene Kapitel 13 „Mikrobielle Prozesse“. Ein typisches Beispiel dafür ist die Produktion von Milchsäure aus dem Abfallsubstrat Molke. Durch einen mikrobiellen Prozess wird aus einem Abwasser ein Wertstoff. Die Frage der Wirtschaftlichkeit wird von den Kosten für die Produktaufarbeitung bestimmt. Deren Integration in den Bioprozess muss in jedem Einzelfall geprüft werden. Selbst bei der mikrobiellen Abwasserreinigung (Kap. 13.9) bestimmt die mögliche Verwertung einzelner Produkte das zu wählende Verfahren (z. B. Biogas, Dünger oder Weiterverwendung des gereinigten Wassers).

Das Buch schließt mit einem neu aufgenommenen Kapitel 14 „Systembiologie in der Bioverfahrenstechnik“. Darunter wird die quantitative Systembeschreibung durch Daten-getriebene Modellierung der metabolischen und regulatorischen Vorgänge in den Zellen verstanden.

Ich bedanke mich bei allen Autoren, die durch sorgfältige Überarbeitung oder Neuschreiben ihrer Kapitel zur Aktualität dieses Lehrbuches

beigetragen haben. Ich danke Prof. Dr. Jürgen Hubbuch für seine wertvollen Anregungen zum Thema „Wässrige Zweiphasenextraktion“. Danken möchte ich auch Frau Yilei Fu für das Zeichnen zahlreicher Abbildungen. Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Sabine Bartels vom Spektrum-Verlag für Ihren unermüdlichen Ein-

satz. Last but not least danke ich meiner Frau für die Assistenz bei allen Aufgaben des Autors und Herausgebers.

Horst Chmiel, München  
Februar 2011

# Inhalt

Vorwort .....	V	4.2 Grundlegende Bioprozessmodelle: Bilanzen und Kinetik.....	105
Verzeichnis der Autoren .....	XI	4.3 Das Monod-Modell .....	106
<b>1 Einführung in die Zellbiologie .....</b>	<b>1</b>	4.4 Lösung des Prozessmodells für den Satzbetrieb ( <i>batch</i> ) .....	109
<i>Lutz Fischer, Horst Chmiel</i>		4.5 Lösung des Prozessmodelles für kontinuierlichen Betrieb .....	114
1.1 Die Zelle als kleinste lebende Einheit ....	1	4.6 Lösung des Prozessmodells für Zulaufverfahren ( <i>fed-batch</i> ) .....	129
1.2 Verschiedene Zelltypen, Viren und Phagen .....	7	4.7 Verfahren mit Zellrückhaltung .....	131
1.3 Fortpflanzung und Evolution .....	16	4.8 Erweiterungen und Modifikationen des Monod-Modells .....	133
<b>2 Einführung in die Biochemie .....</b>	<b>23</b>	4.9 Methoden der Medienentwicklung ....	142
<i>Karl-Heinz Klempnauer, Lutz Fischer, Manfred Karl Otto</i>		4.10 Populationsdynamik in Konkurrenzsituationen .....	145
2.1 Bausteine der Zelle.....	23	4.11 Umsatz in autokatalytischen Reaktionen .....	146
2.2 Stoffwechsel.....	41	<b>5 Rheologie von Biosuspensionen ..</b>	<b>151</b>
2.3 Regulation zellulärer Vorgänge .....	49	<i>Horst Chmiel, Eckehard Walitza</i>	
2.4 Gentechnik .....	58	5.1 Die parallele Schichtenströmung.....	151
<b>3 Enzymkinetik .....</b>	<b>67</b>	5.2 Viskosimeterströmungen inkompres- sibler visko-elastischer Flüssigkeiten... ..	153
<i>Andreas Liese, Lutz Hilterhaus, Michael Howaldt, Horst Chmiel</i>		5.3 Mathematische Modellierung der stationär ermittelten Fließkurve.....	158
3.1 Aktivität und Stabilität .....	68	5.4 Repräsentative Viskosität .....	159
3.2 Reaktionsmechanismen enzymatischer Ein-Substrat-Reaktionen.....	69	5.5 Das Rührer-Rheometer .....	161
3.3 Einfluss der Umgebungsbedingungen... ..	73	5.6 Die instationäre Scherströmung viskoelastischer Fluide.....	162
3.4 Bestimmung der kinetischen Konstanten .....	78	5.7 Dehnströmungen .....	166
3.5 Lineare und nicht-lineare Regression ..	81	5.8 Das Fließverhalten von Fermentationsbrühen .....	167
3.6 Effektorkinetik .....	84	<b>6 Transportvorgänge in Biosuspensionen.....</b>	<b>175</b>
3.7 Reversible Enzymreaktionen .....	89	<i>Horst Chmiel, Eckehard Walitza</i>	
3.8 Allosterie und Kooperativität .....	91	6.1 Maßstabsübertragung .....	175
3.9 Enzymreaktionen mit zwei Substraten .....	95	6.2 Leistungseintrag beim Rühren von Flüssigkeiten .....	179
<b>4 Wachstum: Kinetik und Prozessführung.....</b>	<b>99</b>	6.3 Stofftransport in Biosuspensionen. ....	183
<i>Bernhard Sonnleitner, Horst Chmiel</i>		6.4 Wärmeübergang im Bioreaktor .....	191
4.1 Ideale Prozesse zur Messung der Kinetik .....	102		

<b>7 Bioreaktoren</b> . . . . .	<b>197</b>	<b>11 Kultivierung von Säugetierzellen</b> . . . . .	<b>373</b>
<i>Horst Chmiel</i>		<i>Michael Howaldt, Franz Walz, Ralph Kempken</i>	
7.1 Definition eines Bioreaktors . . . . .	197	11.1 Eigenschaften von Tierzellen . . . . .	373
7.2 Mischer . . . . .	197	11.2 Zellcharakterisierung . . . . .	381
7.3 Reaktortypen . . . . .	198	11.3 Die Umgebung von Zellen in Kultur . . . . .	388
7.4 Hochdurchsatzverfahren für die Bioprozessentwicklung . . . . .	227	11.4 Zellkultivierungsmethoden . . . . .	392
7.5 Schaumprobleme . . . . .	232	11.5 Prozessführung bei Säugerzellkulturen . . . . .	396
<b>8 Sterilisation und Sterildesign</b> . . . . .	<b>237</b>	11.6 Prozessentwicklung und Scale-up . . . . .	401
<i>Jörg Hinrichs, Heinrich Buck, Gerhard Hauser</i>		11.7 Großtechnische biopharmazeutische Produktion . . . . .	410
8.1 Thermische Stabilität von Mikroorganismen . . . . .	237	<b>12 Enzymatische Prozesse</b> . . . . .	<b>427</b>
8.2 Kinetik der thermisch induzierten Veränderungen . . . . .	239	<i>Sebastian Briechle, Michael Howaldt, Thomas Röthig, Andreas Liese</i>	
8.3 Vergleich und Optimierung des Behandlungseffekts . . . . .	242	12.1 Mathematische Beschreibung idealer Reaktortypen . . . . .	428
8.4 Sicherheitsniveau für Sterilisationsprozesse . . . . .	243	12.2 Technischer Einsatz von freien und immobilisierten Enzymen . . . . .	439
8.5 Kontinuierliche Verfahren zur thermischen Mediumsterilisation . . . . .	244	12.3 Prozessvarianten . . . . .	440
8.6 Sterilfiltration . . . . .	244	12.4 Stofftransportlimitierung bei trägerimmobilisierten Enzymen . . . . .	442
8.7 Funktion von Dampfsterilisatoren (Autoklaven) . . . . .	245	12.5 Enzym-Membranreaktoren . . . . .	447
8.8 Sterilisierbare Bioreaktoren . . . . .	246	12.6 Nicht-konventionelle Reaktionsmedien . . . . .	451
8.9 Sterildesign . . . . .	248	12.7 Prozessbeispiele . . . . .	465
<b>9 Bioprozessanalytik und -steuerung</b> . . . . .	<b>263</b>	<b>13 Mikrobielle Prozesse</b> . . . . .	<b>477</b>
<i>Bernd Hitzmann, Thomas Scheper</i>		<i>Christoph Sylđatk, Horst Chmiel</i>	
9.1 Charakteristische Parameter des Bioprozessmonitorings . . . . .	263	13.1 Mikrobielle Stoffproduktion . . . . .	477
9.2 Messtechnik . . . . .	265	13.2 Produktion rekombinanter Proteine . . . . .	481
9.3 Softwaresensoren . . . . .	284	13.3 Mikrobielle Aminosäureproduktion . . . . .	482
9.4 Automatisierung . . . . .	288	13.4 Mikrobielle Produktion von Biotensiden . . . . .	485
<b>10 Aufarbeitung (Downstream Processing)</b> . . . . .	<b>295</b>	13.5 Biokatalytische Epoxidierung von Styrol zu enantiomerenreinem (S-) Styroloxid . . . . .	486
<i>Horst Chmiel</i>		13.6 Biotechnische Herstellung organischer Säuren . . . . .	488
10.1 Zellernte . . . . .	296	13.7 Mikrobielle Produktion von Aromastoffen . . . . .	493
10.2 Zellaufschluss . . . . .	302	13.8 Bioethanolproduktion . . . . .	495
10.3 Produktisolation, -konzentrierung und -reinigung . . . . .	307	13.9 Biotechnische Herstellung von Biomasse . . . . .	497
10.4 Entwicklung von Downstream-Prozessen . . . . .	363	13.10 Mikrobielle Abwasserreinigung unter Einsatz von Membranen . . . . .	498

---

<b>14 Systembiologie in der Bioverfahrenstechnik . . . . .</b>	<b>507</b>
<i>Ralf Takors</i>	
14.1 Einführung in die Systembiologie . . . . .	507
14.2 Aufgaben der Systembiologie für die Bioprozessentwicklung . . . . .	510
14.3 Stöchiometrische Stoffflussanalysen ( <i>metabolic flux analysis</i> , MFA) . . . . .	511
14.4 Stoffflussanalysen auf der Basis von Markierungsinformation. . . . .	513
14.5 Metabolische Kontrollanalyse ( <i>metabolic control analysis</i> , MCA) . . . . .	516
14.6 Signaltransduktion. . . . .	520
<b>Symbolverzeichnis . . . . .</b>	<b>527</b>
<b>Sachregister . . . . .</b>	<b>531</b>



# Verzeichnis der Autoren

## Verzeichnis der Kapitelautoren

Dipl.-Ing. Sebastian **Briechle**  
Chemical Engineering Industrial Biotechnology  
BASF SE, GCP/PH-A015  
67056 Ludwigshafen

Dipl.- Ing. Heinrich **Buck**  
Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG  
Birkendorfer Straße 65  
88397 Biberach

Prof. Dr.-Ing. habil. Horst **Chmiel**  
audita Unternehmensberatung GmbH  
Haslangstr. 28  
80689 München

Prof. Dr. rer. nat. Lutz **Fischer**  
Universität Hohenheim  
Institut für Lebensmittelwissenschaft  
und Biotechnologie  
Garbenstrasse 25  
70599 Stuttgart

Dr.-Ing. Gerhard **Hauser**  
Goethestrasse 43  
85386 Eching

Dr. rer. nat. Lutz **Hilterhaus**  
Technische Universität Hamburg-Harburg  
Institut für Technische Biokatalyse  
Denickestraße 15  
21073 Hamburg

Prof. Dr.-Ing. habil. Jörg **Hinrichs**  
Universität Hohenheim  
Lehrstuhl für Lebensmittelwissenschaft  
und Biotechnologie  
Garbenstrasse 21  
70599 Stuttgart

Prof. Dr. rer. nat. Bernd **Hitzmann**  
Leibniz Universität Hannover  
Institut für Technische Chemie  
Callinstrasse 5  
30167 Hannover

Dr.-Ing. Michael **Howaldt**  
Boehringer Ingelheim Pharma GmbH  
& Co. KG  
Birkendorfer Straße 65  
88397 Biberach

Dr. Ralph **Kempken**  
Boehringer Ingelheim Pharma GmbH  
& Co. KG  
Birkendorfer Straße 65  
88397 Biberach

Prof. Dr. Karl-Heinz **Klempnauer**  
Westfälische Wilhelms-Universität  
Institut für Biochemie  
Wilhelm-Klemm-Straße 2  
48149 Münster

Prof. Dr. Andreas **Liese**  
Technische Universität Hamburg-Harburg  
Institut für Technische Biokatalyse  
Denickestraße 15  
21073 Hamburg

Dr. Manfred Karl **Otto**  
Biegenmühle 4  
72119 Ammerbuch

Dr.-Ing. Thomas **Röthig**  
Schützenstr. 17  
58332 Schwelm

Prof. Dr. rer. nat. Thomas **Scheper**  
 Leibniz Universität Hannover  
 Institut für Technische Chemie  
 Callinstrasse 5  
 30167 Hannover

Prof. Dr. Dipl.-Ing. Bernhard **Sonnleitner**  
 Zürcher Hochschule für angewandte Wissen-  
 schaften zhaw  
 Institut für Chemie und Biologische Chemie icbc  
 Campus Reidbach, Einsiedlerstrasse 29  
 CH 8820 Waedenswil

Prof. Dr. Christoph **Syldatk**  
 Karlsruher Institut für Technologie (KIT)  
 Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik  
 Bereich II: Technische Biologie  
 Kaiserstrasse 12  
 76131 Karlsruhe

Prof. Dr.-Ing. Ralf **Takors**  
 Technische Universität Stuttgart  
 Institut für Bioverfahrenstechnik  
 Allmandring 31  
 70569 Stuttgart

Dr.-Ing. Eckehard **Walitza**  
 Ludwigstraße 32  
 73430 Aalen

Dr. Franz **Walz**  
 Boehringer Ingelheim Pharma GmbH  
 & Co. KG  
 Birkendorfer Straße 65  
 88397 Biberach

## Verzeichnis der Beitragsautoren

13.5 Dr.-Ing. Christoph **Brandenbusch**  
 Technische Universität Dortmund  
 Lehrstuhl für Thermodynamik  
 Emil-Figge-Straße 70  
 44227 Dortmund

13.10 Prof. Dr. Dieter **Bryniok**  
 Fraunhofer-Institut für Grenzflächen und  
 Bioverfahrenstechnik  
 Nobelstrasse 12  
 70569 Stuttgart

7.4 Prof. Dr.-Ing. Jochen **Büchs**  
 RWTH Aachen  
 AVT - Aachener Verfahrenstechnik  
 Biochemical Engineering  
 Worringerweg 1  
 52074 Aachen

13.5 Dr. Bruno **Bühler**  
 Technische Universität Dortmund  
 Lehrstuhl für Biotechnik  
 Emil-Figge-Straße 66  
 44227 Dortmund

10.3.1.9 Prof. Dr. Ruth **Freitag**  
 Universität Bayreuth  
 Lehrstuhl für Bioprozesstechnik  
 Universitätsstraße 30  
 95440 Bayreuth

10.3.6.11 Dr. Jürgen **Friedle**  
 Atoll GmbH  
 Ettishofer Straße 10  
 88250 Weingarten

7.3.8 Prof. Dr. Martijn van **Griensven**  
 Ludwig Boltzmann Institut für experimentelle  
 und klinische Traumatologie  
 Donaueschingenstraße 13  
 A-1200 Wien

7.3.1.5 Dr.-Ing. Rudolf **Hausmann**  
 Karlsruher Institut für Technologie (KIT)  
 Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik  
 Technische Biologie  
 Engler-Bunte-Ring 1 Geb. 40.19  
 76131 Karlsruhe

7.4 Dr.-Ing. Ralf **Hortsch**

Corporate Research and Development  
Süd-Chemie AG  
Staffelseestraße 6  
81477 München

7.3.8 PD Dr. Cornelia **Kasper**

Leibniz Universität Hannover  
Institut für Technische Chemie  
Callinstraße 5  
30167 Hannover

13.6.3 Dr. Marco Antonio **Mirata**

DECHEMA e.V.  
Karl-Winnacker-Institut  
Biochemical Engineering  
Theodor-Heuss-Allee 25  
60486 Frankfurt am Main

7.3.6 Prof. Dr.-Ing. Clemens **Posten**

Karlsruher Institut für Technologie (KIT)  
Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik  
Bereich III: Bioverfahrenstechnik  
Fritz-Haber-Weg 2, Geb. 30.44  
76131 Karlsruhe

13.5 Prof. Dr. Gabriele **Sadowski**

Technische Universität Dortmund  
Lehrstuhl für Thermodynamik  
Emil-Figge-Straße 70  
44227 Dortmund

10.4 Prof. Dr.-Ing. Gerhard **Schembecker**

Technische Universität Dortmund  
Lehrstuhl für Anlagen- und Prozesstechnik  
Emil-Figge-Straße 70  
44227 Dortmund

13.5 Prof. Dr. Andreas **Schmid**

Technische Universität Dortmund  
Lehrstuhl für Biotechnik  
Emil-Figge-Straße 66  
44227 Dortmund

13.6.3 PD. Dr. Jens **Schrader**

DECHEMA e.V.  
Karl-Winnacker-Institut  
Biochemical Engineering  
Theodor-Heuss-Allee 25  
60486 Frankfurt am Main

10.3.6.11 Dipl.-Ing. Tim **Schroeder**

Atoll GmbH  
Ettishofer Straße 10  
88250 Weingarten

10.4 Dipl.-Ing. Stefanie **Schuldt**

Technische Universität Dortmund  
Lehrstuhl für Anlagen- und Prozesstechnik  
Emil-Figge-Straße 70  
44227 Dortmund

7.4 Prof. Dr.-Ing. Dirk **Weuster-Botz**

Technische Universität München  
Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik  
Boltzmannstraße 15  
85748 Garching

10.4 Dr.-Ing. Torsten **Winkelnkemper**

Winkelnkemper GmbH  
Krummer Weg 31  
59329 Wadersloh